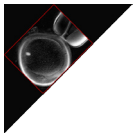
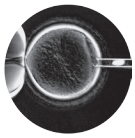
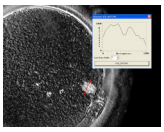
Oosight™ Imaging System



Position spindle for ICSI.



Enucleate without using harmful stains or UV.



Assess egg quality.

Manuale d'uso
Versione 1.0

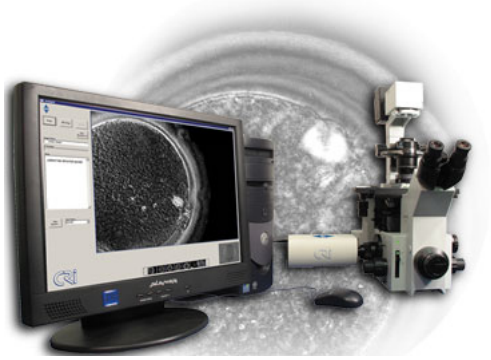
www.cri-inc.com

Per maggiori informazioni contattare:

Cambridge Research & Instrumentation, Inc. (CRi)
35-B Cabot Road, Woburn, MA, 01801, USA
Phone: 1-800-383-7924 (Toll-Free US-only) or +1-781-935-9099 (International)
Fax: +1-781-935-3388
Email: techsupport@cri-inc.com
url: www.cri-inc.com

Oosight and LC-PolScope are trademarks of Cambridge Research & Instrumentation, Inc. Other trademarks and trade names may be used in this document to refer to either the entities claiming the marks and names or their products.

Oosight™ Imaging System



CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Sommario

Introduzione 7
Breve introduzione al sistema Oosight 7
Birifrangenza 7
Visualizzare il fuso 7
Visualizzare la Zona Pellucida 8
Applicazioni 9

Guida all' Hardware & Software 10
Guida all' Hardware 10
Camera CCD Oosight 10
Alimentatore e cavo USB 10
CD-ROM d'installation e vetrini di riferimento 11
LC Compensatore 11
Polarizzatore Circolare 12
Accessori 13

Guida al software 14
Descrizione delle funzioni base del softwares 15
Barra Menu 15
Live Video 15
Pannello acquisizione 15
Background e AutoExpose 15
Data Management 16
Display Information e Settings 16
Task bar 16
Studio 16
Tool bar 17
Image Gallery 17
Oosight Ultra Plug-In Tools 17

Setup e installazione 18
Settaggio del sistema Oosight 18
Sballare l'e Hardware 18
Computer Setup 18
Installazione delle ottiche CRi 18
Installazione del compensatore LC 18
Nikon Diaphot 200 or 300, or TE200 or TE300 19
Nikon TE2000 19
Olympus IX-Series 20
Zeiss Axiovert 200 20
Leica DM-IRB 21

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Installazione del Polarizzatore circolare 21
HMC® Condensatore.....22
EP-Serie.....22
G-Serie.....22
Condensatori Hoffman Modulation Contrast 23
Nikon Diaphot o TE300 LWD e ELWD.....23
Nikon TE2000 LWD or ELWD 25
Olympus IX71 Relief Contrast 23
Leica S40 23
Standard (Non-Hoffman) Condensatori.....23
Nikon Diaphot 200 or 300, or TE200 or TE300 23
Olympus IX-series 24
Zeiss Axiovert 200 24
Leica DM-IRB 24
Installare la CCD Camera.....24
Cavi di connessione 25
Settaggio del microscopio 26
Illuminazione Koehler.....26
Rimozione ottiche di interferenza.....26
Posizionamento ottiche CRi 27
Installazione Oosight Software 27

Operazioni sul sistema Oosight 27
Setup e Acquisizione 27
Analisi sulle immagini.....28

Domande ricorrenti e problemi.....29
Domande frequenti (FAQs) 29
Guida ai problemi 30
Contatti CRi 31

Appendice A: Specifiche.....32
Compatibilita' dei microscopi.....32
Accessori.....33

Appendice B: Importanti Note.....33
Sommario.....33
Attenzioni e pericoli 33
Design Change Disclaimer 34
Reproduction Disclaimer 34
Assistenza all'utilizzatore.....34
Garanzia.....34
CE, CSA, e UL Testing e Certificazioni.....34
Licenza CRi Software 34

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Sezione 1: Introduzione

Questa sezione fornisce unintroduzione alla teoria ed ai metodi che permettono al sistema CRi's Oosight di generare immagini ad alto contrasto utili sia in Laboratori clinici che di ricerca.

Breve introduzione all'immagine di Oosight

Birifrangenza

Materiali fisici o biologici sono spesso trasparenti o translucidi. Essi hanno pochi o punti dettagli quando vengono retroilluminati con luce bianca. Comunque questi stessi campioni quando sono disposti fra due polarizzatori incrociati, rendono visibili la loro struttura. Tali strutture possiedono una proprieta' cosidetta birifrangenza.

Per illustrare la birifrangenza occorre un semplice esperimento che utilizza due fogli di materiale polarizzante ed un pezzo di comune cellophane nel mezzo. La luce passa attraverso la regione coperta nastro come se ci fosse un foro ritagliato nel fondo nero dei polarizzatori incrociati.

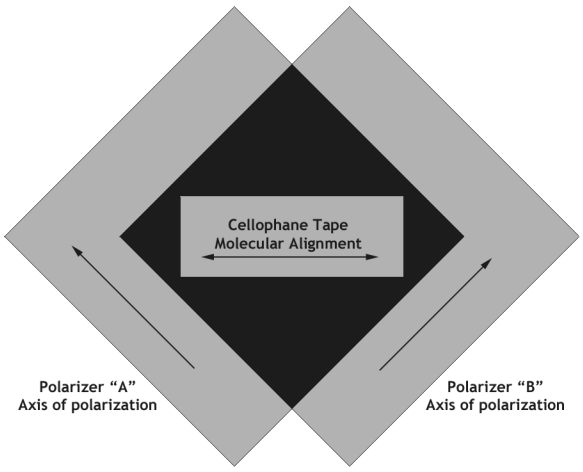


Figure 1.1. Due pezzi di materiale polarizzante con nel mezzo un nastro di cellophane. Quando gli assi di polarizzazione sono orientati a 90° viene trasmessa pochissima luce. Comunque l'area coperat dal cellophane lascia passare piu' luce a causa della proprieta' birifrangente del materiale.

Il cellophane è modellato in fogli durante la sua realizzazione e le sue molecole vengono allineate in una direzione, creando due distinti indici di rifrazione.

I campioni il cui indice di rifrazione non è lo stesso in tutte le direzioni , come il cellophane o il fuso , sono detti otticamente anisotropi. Quando la luce passa attraverso le aree di un campione anisotropo, lo stato della luce polarizzata viene cambiato. La proprieta' che produce questo effetto è detta birifrangenza.

La birifringenza, piu' specificatamente, è una proprieta' intrinseca di un campione che contiene molecole ordinate. Normalmente un materiale birifrangente ha due assi ottici ortogonali, gli assi lento e veloce, con indice di rifrazione lungo l'asse lento maggiore di quello dell'asse veloce.

La luce polarizzata parallelamente all'asse lento passa il campione a velocita' piu' lenta rispetto alla luce polarizzata

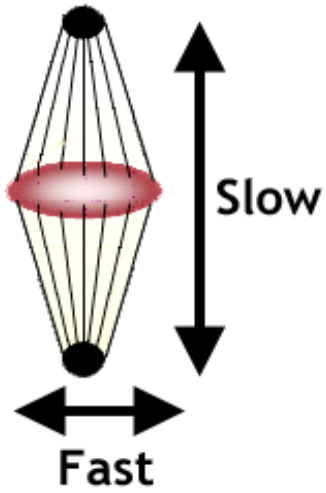


Figure 1.2. Schema di un fuso che mostra rispettivamente la struttura degli assi lento e veloce. Questa rappresentazione e' solo una cruda rappresentazione delle proprieta' birifrangenti del fuso. Ogni fibra dei microtubuli del fuso possiede birifrangenza, tale che l'asse lento risulta lungo la lunghezza della fibra ed il lento lungo la larghezza.

parallela all'asse veloce. Come risultato queste due componenti della luce che erano in fase all'ingresso del campione, sono ora sfasate alla loro uscita. La misura di questo cambiamento di fase in nanometri puo' essere usata per determinare la birifrangenza, ed a sua volta usata per analizzare la magnitudine e l'orientamento delle molecole del campione.

La birifrangenza fornisce un'opportunita' unica per analizzare la struttura di un campione come il fuso, senza doverlo trattare con coloranti o marcatori fluorescenti. Comunque i metodi convenzionali per analizzare la distribuzione spaziale della birifrangenza con la luce polarizzata tradizionale, risultano complicati e laboriosi.

Il sistema Oosight, sviluppando la tecnologia del Polscopio, semplifica enormente il processo delle immagini in

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

birifrangenza, permettendo analisi quantitative dell'immagine intera indipendentemente dall'orientamento del campione. Tale informazione puo' essere usata per una miglior comprensione dei cambiamenti biologici del fuso e di altre strutture all'interno dell'ovocita.

Visualizzare il fuso

Gli ovociti sono bloccati in metafase II (MII), in cui un denso mazzo di filamenti forma il fuso meiotico. (Fig.1.3). Il fuso è fondamentale per l'allineamento e la separazione dei cromosomi lungo la piastra metafasica, cosiche' avvenga una corretta divisione delle coppie di cromosomi durante lo sviluppo dell'uovo. Anomalie nella sua integrita' possono causare una mancata o anormale fertilizzazione, morte dell'embrione o aborti spontanei con relative conseguenze. L'architettura dei filamenti e delle loro connessioni è dinamica, e puo' essere usata per capire i cambiamenti nella biologia dell'ovocita *in vitro*. E' anche una struttura fragile, per cui le tecniche di visualizzazione del fuso possono rivelarsi efficaci sia nel controllo di un corretto sviluppo, sia per minimizzare i danni all'ovocita durante la ICSI.

In IVF, i piu' pratici osservano la morfologia per predire la vitalita' dell'embrione piu' adatto per l'impianto. L'abilita' di controllare la salute di un ovocita umano con questi metodi è comunque limitativa. Di recente è stato trovato che la presenza del fuso, la sua morfologia, disposizione e posizione durante la ICSI sono correlate con lo sviluppo e possono essere usate nell'aiuto della valutazione della qualita' dell'uovo.

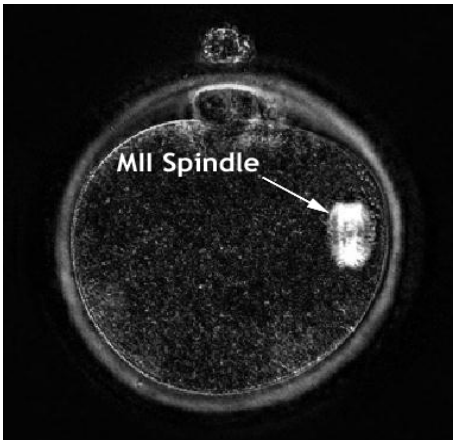


Figura 1.3. Ovocita di topo con fuso meiotico a 90° rispetto al globulo polare. Immagine fornita da D Keefe, WIHRI, Providence, RI.

I metodi convenzionali ad alta risoluzione per osservare il fuso, come l'immunoistochimica o la microscopia elettronica, sono limitati a campioni fissati. Benche' essi risultino utili nella ricerca, non sono applicabili alla clinica. I metodi di miglioramento del contrasto compatibili con la pratica clinica ed in uso nel settore IVF, come il DIC, il contrasto di fase o il contrasto Hoffman, forniscono un contrasto utile a visualizzare certe strutture delovocita, ma non forniscono ua sufficiente risoluzione dell'immagine del fuso. applicable.

Inoué (1953) fu il primo ad usare la microscopia a luce polarizzata non invasiva, per osservare il fuso meiotico e mitotico , facendo uso delle proprieta' birifrangenti dei microtubuli. I microtubuli, visto che sono costituiti da molecole ordinate, influenzano lo stato della luce polarizzata anisotropicamente. Come descritto nella precedente sezione, strutture cellulari anisotrope, come la tubulina, actina, miosina e collagene, contengono due assi ortogonali con indice di rifrazione lungo un asse diverso dall'altro asse. La misura del cambiamento di fase della luce polarizzata al passaggio attraverso i due assi, puo' essere usata per determinare la birifrangenza, la quale puo' essere allora relazionata alla magnitudine (ritardo in nanometri) ed all'orientamento (azimut in gradi). In metafase II quindi la composizione della struttura del fuso che è provato essere birifrangente, puo' essere così misurata.

Le osservazioni del fuso usando i sistemi tradizionali a luce polarizzata sono ostacolate da limitazioni nella sensibilita' e dall'orientamento del fuso relativamente alla direzione di polarizzazione dell'illuminazione. Il ritardo del fuso è tipicamente al di sotto del limite rilevabile dalla maggior parte dei microscopi convenzionali a luce polarizzata. Inoltre poiche i sistemi standard sono dipendenti dall'orientamento, la posizione del fuso influenzera' drammaticamente il contrasto ottenuto. Anche l'orientamento dell'asse lento influenzera' la misura del ritardo del campione. Per quantificare correttamente il ritardo del fuso, le ottiche convenzionali devono essere manualmente allineate per coincidere con l'orientamento del fuso. Tali limitazioni escludono la microscopia a luce polarizzata standard come mezzo pratico per visualizzare e valutare il fuso in campo clinico. Il sistema Oosight supera queste limitazioni, permettendo la visualizzazione e misura di strutture birifrangenti con basso ritardo in base all'orientamento.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Il sistema permette una chiara visualizzazione del fuso in maniera indipendente rispetto alla posizione del fuso stesso. Quindi una localizzazione veloce, analisi e misure del fuso ed altre strutture ,n sono ora possibili anche in un contesto clinico.

Visualizzazione della Zona Pellucida

La zona pellucida è composta di tre strati di glicoproteine (Figura 1.4). Gli strati interno ed esterno sono birifrangenti e quindi sono visualizzabili ed analizzabili con il sistema Oosight. La costruzione di questa struttura multilaminare gioca un ruolo vitale nella fertilizzazione e nello sviluppo normale dell'ovocita e del futuro embrione. Recenti ricerche hanno suggerito che irregolarita' nella misura del ritardo, dell'orientamento o dello spessore dei diversi strati possono predire la

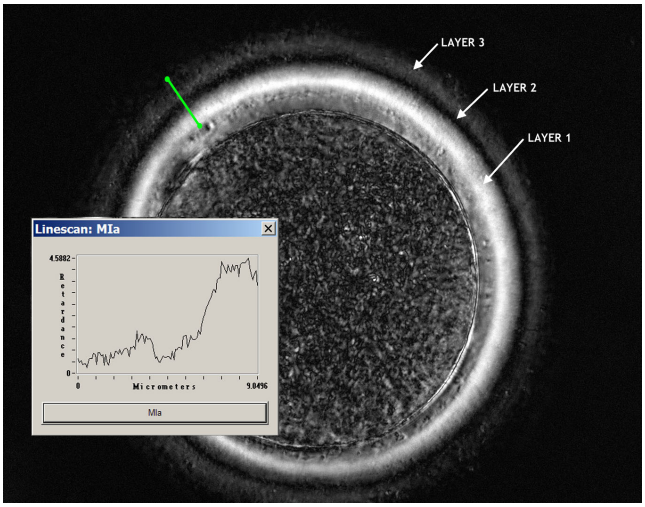


Figura 1.4. Ovocita umano con indicati i 3 distinti strati glico proteici della zona pellucida. La linea verde ed il grafico mostrano la linea di ritardo delle tre zone. Nota che l'alto ritardo dello strato 1 indica una disposizione piu' densa ed organizzata delle glicoproteine. D Keefe, WIHRI, Providence, RI.

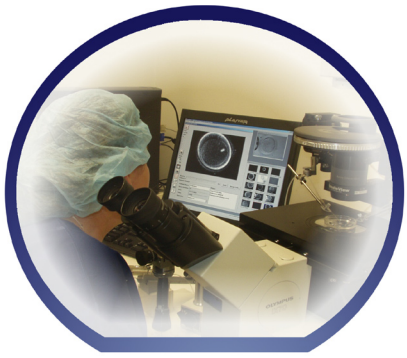
vitalita' futura. L'uso del sistema per monitorare questi parametri della zona, puo' aiutare sia ad identificare le possibilita' di sviluppo sia a far meglio capire come la struttura è affetta dalle metodiche in vitro.

.

Applicazioni

Il sistema Oosight fornisce un immagine real-time, facile utilizzo del software su base Windows™ ed un design versatile per una semplice integrazione nei protocolli esistenti per IVF ed applicazioni di nuclear transfer. Il sistema è usato di routine per le seguenti applicazioni :

ICSI: Si puo' usare il sistema Oosight per guidare la microiniezione e per monitorare la vitalita' dell'ovocita. La presenza e disposizione del fuso al momento della ICSI è stato messo in relazione allo sviluppo futuro.



Nuclear Transfer: Si puo' usare il sistema ad alto contrasto e non invasivo, per guidare una rimozione facile e sicura del fuso dall'ovocita e nello stesso tempo minimizzare l'estrazione di DNA citoplasmatico.

Congelamento ovociti: Il fuso è sensibile alla temperatura e suscettibili a danni durante la manipolazione e il congelamento. Si puo' usare il sistema Oosight per monitorare l'effetto dei cambiamenti di temperatura in diversi protocolli di congelamento di ovociti e selezionare gli ovociti vitali dopo congelamento.

Misura della Zona Pellucida: La struttura della zona multistrato è correlata al potenziale di sviluppo dell'embrione. Le ricerche hanno evidenziato una relazione fra la densita' dello strato interno e le possibilita' di sviluppo. Ora come mai in passato è possibile misurare in maniera non invasiva lo spessore, la densita' e l'orientamento della zona usando gli avanzati tools presenti nel sistema Oosight Ultra.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Sezione 2: Guida **Hardware** e **Software**

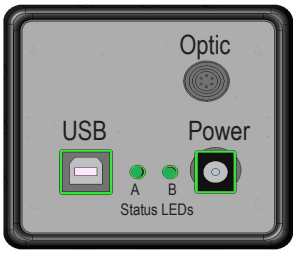
La sezione seguente contiene una descrizione dei componenti che costituiscono il sistema Oosight, sia hardware che software. Uno schema figurativo aiuta ad identificare ogni componente. Una volta ricevuto l'hardware Oosight, spacchettare i componenti e confrontare il contenuto alla Packing List inclusa nei contenitori di spedizione.

Guida Hardware

Ogni sistema Oosight contiene una camera digitale, un compensatore ottico a cristalli liquidi (LC), un filtro circolare polarizzante interferenziale (CP/IF), alimentatore, cavo USB, CD-ROM di installazione software e un vetrino di riferimento. La sezione seguente espone in dettaglio questi componenti, incluse le varie configurazioni supportate da CRi. Prego far riferimento alla sola configurazione di interesse identificata al momento dell'ordine.

Camera CCD

La camera CCD è interfacciata UB2, compatibile passo C, e puo' operare come camera digitale standard per tutte le esigenze di microscopia.
E' disponibile anche una versione raffreddata a 12 bit con piu' grande formato ottico, che risulta utile per osservazione di immagini a bassa fluorescenza.



Il retro della camera contiene la porta per connettere il cavo del compensatore ottico LC, (optic), il cavo USB (USB) e il cavo del trasformatore di alimentazione (power).

are also two status LED lights, including one for the camera power (LED A) and the other for the LC compensator optic (LED B). LED A will illuminate green when the camera is receiving power from the transformer and computer. LED B will blink green upon startup to signify initialization and during any sequence involving the changing of optical states. It will remain illuminated when there is positive communication to the LC compensator optic. When either LED is red or not illuminated altogether, there is a problem with the connection (reference the FAQ/Troubleshooting section of this manual).

Specifiche della Standard CCD:

- 1392x1040 pixels
- 6.47 µm x 4.83 µm, 8-bit
- 1/2” formato
- Binning
- ROI

Specifiche della Cooled CCD:

- 1392x1040 pixels
- 6.47 µm x 4.83 µm, 12-bit
- 2/3” formato
- Binning
- ROI

Alimentatore

Ogni sistema è equipaggiato con un trasformatore universale da 110/220V. E' fornito anche un kit di adattamento per le diverse prese elettriche.
Inserire il cavo specifico per il vostro paese nel retro del trasformatore. Il trasformatore va' connesso alla rete elettrica.
Il cavo va' poi connesso al retro della CCD camera (power).

Cavo USB

Il cavo USB ha due diversi connettori alle estremita', marcati nella foto con A e B.

Il connettore A va' sulla porta USB del computer, mentre il connettore B va' sul retro della camera CCD .

Software di Installazione CD-ROM

Il CD ROM di installazione contiene la versione corrente del software Oosight . Caricalo inserendo il CD nel drive del CD-ROM del computer. Segui le indicazioni per completare l'installazione.

Reference Slide Set

Two reference sample slides are included with the system. The samples are birefringent fibers. Use these slides to setup the microscope and to practice using the system.

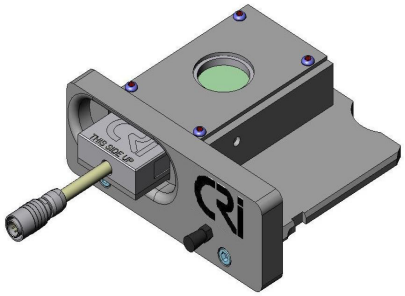
Compensatore Ottico LC

Il compensatore ottico LC è contenuto in una slitta di alluminio anodizzato con un cavo connesso. La slitta viene normalmente inserita nella posizione dell'analizzatore del microscopio. Il cavo è connesso alla camera. Il compensatore LC cambia lo stato della polarizzazione tramite i comandi software. Questi cambiamenti dello stato di polarizzazione in aggiunta a particolari algoritmi brevettati, sono i responsabili dell'elevato contrasto delle immagini del sistema Oosight .

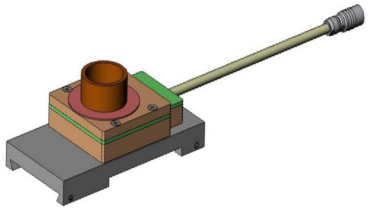
Nota: Le ottiche fornite col sistema sono specifiche per ogni microscopio. Assicurarsi di quale modello è stato ordinato e far riferimenti agli specifici componenti indicati in questa sezione. Far riferimento alla sezione Setup ed Installazione di questo manuale per la descrizione di come inserire le ottiche nel tuo microscopio.

The model of LC compensator optic is specific to your particular microscope model as shown below:

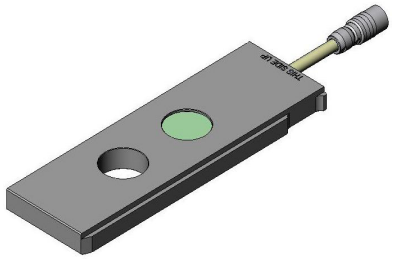
Leica DM-IRB



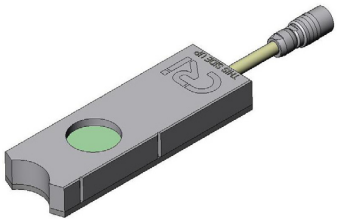
Nikon Diaphot 200 o 300, o TE200 o 300



Nikon TE2000



Olympus IX-Series



Zeiss Axiovert 200

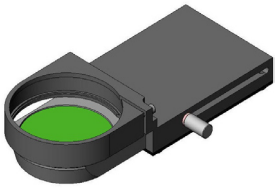
CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Polarizzatore circolare/Filtro interferenziale

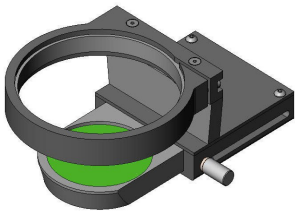
Il polarizzatore circolare ed il filtro interferenziale sono contenuti in un unica slitta di alluminio anodizzato. Questa è inserita tra la sorgente di luce ed il portacampione. Questa ottica crea una luce monocromatica polarizzata circolarmente, essenziale per le corrette operazioni del sitema Oosight. Come il compensatore LC, il polarizzatore circolare è specifico per ogni microscopio ed ogni particolare condensatore come sotto mostrato.
La lista è suddivisa fra microscopi con HMC® (hoffman modulation contrast by Modulation Optics, Inc), hoffman modulation contrast diverso da HMC e condensatori non hoffman.
Far riferimento alla sezione Setup ed Installazione di questo manuale per la descrizione di come inserire le ottiche nel tuo microscopio.

HMC Condensatore:

EP-Series

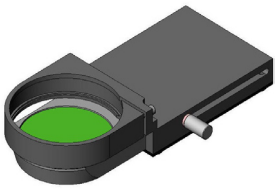


G-Series

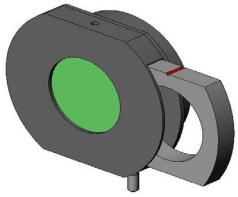


Hoffman Modulation Contrast Condensatore:

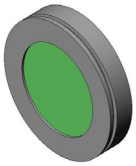
Nikon LWD e ELWD



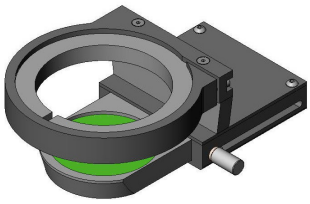
Nikon TE2000



Olympus IX-71

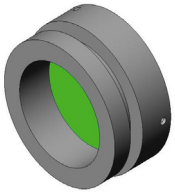


Leica S-40

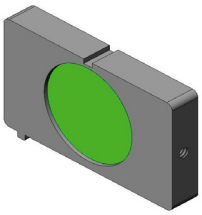


Standard (Non-Hoffman) Condensatore:

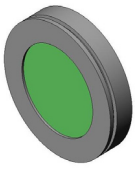
Leica DM-IRB



Nikon TE300



Olympus IX-Series e Zeiss Axiovert 200



CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Workstation Computer

Il computer fornito con il sistema è un accessorio opzionale e puo' essere sia un desktop con monitor LCD, sia un notebook.

.

** Il modello esatto puo' differire dalla foto.*

Le specifiche minime del computer per assicurare un corretto funzionamente del sistema Oosight sono indicate nella tabella sottostante:

Processore	Intel Pentium 4 o Pentium 4-compatibile (M / mobile processor for laptops), 2 GHz o maggiore
Memoria	1 GB
Display	1024 x 1280 pixel resolution, 24/32-bit color
Hard Disk	80 GB, raccomandata high-speed per accesso veloce (es, 7800 rpm o similare)
Mouse	Mouse a due o tre tasti
CD/DVD	Read/write unita'CD-ROM , raccomandato masterizzatore DVD
USB	Richiesta interfaccia USB-2 con almeno due porte disponibili.
Sistema Operativo	Windows XP o XP Pro, Service Pack 2 o successivo, English-version

Attenzione: Il sistema Oosight potrebbe non funzionare con processori Intel Celeron o AMD.

Accessori (non inclusi col sistema)

Gli accessori richiesti per il sistema sono un adattatore passo C 1x per connettere la camera al microscopio, un tavolino riscaldato per assicurare la stabilita' termica entro un grado centigrado e capsule col fondo in vetro. Il sistema non lavora con capsule in plastica poiche' la plastica risulta birifrangente.

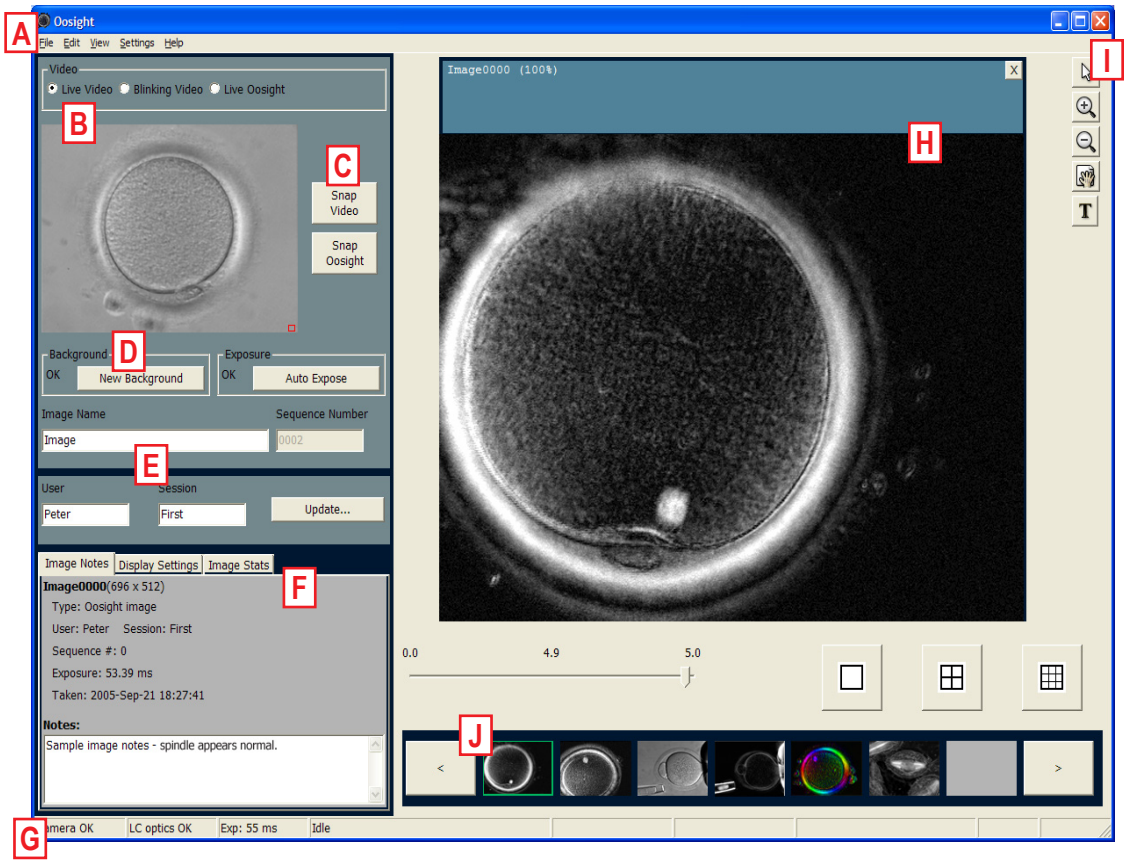
.

Nota: E' essenziale un rigoroso controllo termico per mantenere l'integrita' del fuso e il buon sviluppo dell'embrione.
La temperatura ottimale per gli ovociti umani è di 37°C.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Guida di riferimento del Software

Il software Oosight puo' essere installato usando il CD fornito col sistema. Dopo l'installazione aprire il programma Oosight usando l'icona sul desktop o cliccando su Start/Programs/CRi/Oosight. Le funzioni del Software saranno descritte in questa sezione. Una videata con indicazioni evidenziate (vedi sotto) aiutera' ad identificare i comandi e le funzioni relative dell'interfaccia utente.
Far riferimento alla sezione Setup ed Installazione del manuale per una guida piu' comprensiva delle operazioni iniziali.



CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

A. BARRA MENU'

Seguire le funzioni standard di Windows per **File, Edit, View, Settings**, e **Help**.

File: funzione standard di Windows come **Open, Close, Save, Save As** e **Exit**. Open aprira' un file proprietario CRi con estensione .pli. Per aprire files TIFF selezionare l'opzione Import. Una funzione di import permette di esportare immagini in formato TIFF. Il sistema salva automaticamente le immagini in formato .pli. Le opzioni Save e Save As sono per salvare semplicemente immagini che erano state aperte da una direttori esterna.

Edit: include **Undo** per tornare all'ultima modifica o annotazione, **Delete** per rimuovere completamente un immagine dalla galleria, **Copy** per copiare un immagine sulla clipboard, e **Preferences. Preference** permette di definire il formato immagine (piena o meta' risoluzione), lo stato dell'LC per l'intensita' dell'immagine , la frequenza live piu' adatta e una selezione per caricare automaticamente l'ultimo utilizzatore definito e relativa sessione.

View: include le funzioni zoom in e out (accessibili anche sulla barra), ed una finestra di informazioni associate all'immagine (es, esposizione, ora della ripresa, background usato, etc).

Settings: definisce l'azimut dell'angolo di deviazione per ogni microscopio. Nikon, Leica e Zeiss hanno un angolo di deviazione di 90 gradi.
Olympus ha un angolo di 135 gradi.

Si raccomanda di resettare lo stato del compensatore ottico quando avviene a) una rotazione del polarizzatore circolare o b) una evidente perdita della qualita' dell'immagine non rimediabile attraverso un resettaggio del background.

Help: identificare la versione software utile come riferimento durante i contatti con CRi per una possibile assistenza tecnica.

B. LIVE VIDEO

La videata live video include la finestra live e le varie opzioni a menu', incluso il video standard (Live Video), il paragone fra due metodi ottici e Live Oosight. Selezionare il modo preferito cliccando su il crchio appropriato sulle opzioni elencate.

Il sistema ha due metodi per rimuovere background dall'immagine live ed acquisire immagini col maggior rapporto segnale rumore. Il primo è la correzione del background (identificata con Item D. Background/Exposure Adjust), e il secondo è un ricalcolo del background che esclude ancora il fondo intorno al campione.
L'area per il calcolo del background è definita con un riquadro rosso nella finestra live. Questo quadro non puo' essere essere spostato.
Posizionare quindi il campione sul tavolino del microscopio cosiche' non sia all'interno del riquadro.

Il video stream della finestra video appare a meta' risoluzione (es, 2x2 binning). Per andare a piena risoluzione cliccare due volte sull'immagine live. Successivamente un live stream apparira' nella finestra Studio (H). Per vedere a piena risoluzione assicurarsi di aver selezionato la finestra 1x1 box nel pannello comandi.

C. ACQUIRE □

Acquisisce una immagine

D. BACKGROUND AND AUTO EXPOSE

Premere il tasto Background per acquisire una immagine nuova del background. Il background sara' acquisito automaticamente dopo aver settato la configurazione ottica. Un nuovo background va' preso quando a)la qualita'del live o dell'immagine acquisita appare rumorosa o sgranata oppure b)il sistema stesso suggerisce di riacquisire il background. Nel contempo si resettera' il livello di esposizione.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

I livelli di esposizione sono settati automaticamente quando una immagine live è selezionata. Una nuova esposizione occorre quando a) si cambia obiettivo con la stessa modalita' live, o b) quando la finestra live è troppo scura o troppo chiara. Se troopo scura accertarsi di aver acceso l'illuminazione e selezionato correttamente l'uscita corrispondente alla videocamera.

.

E. ORGANIZZATORE DATI

Oosight ha un'unica struttura di gestione dati che permette di acquisire automaticamente un'immagine in una sessione definita dall'operatore.

.

Una volta aperto il software per la prima volta si puo' entrare nella funzione User e Session.
L'User name viene specificato dall'operatore. Ogni utilizzatore del sistema puo' avere un unico user name. La **Session** puo' definire un particolare ciclo, caso, serie di campioni o tempo . Per modificare User o Session, selezionare il tasto **Update** . **Image Name** dovrebbe essere inserito prima di salvare l'uimmagine. Ogni immagine viene automaticamente abbinata ad un numero sequenziale e salvata in maniera definita nelle finestre user e session .

Le immagini sono salvate come file .pli . Per salvare l'immagine come TIFF, selezionare File/Export dal menu quindi selezionare la directory di esportazione e premere OK.

Per accedere alla directory user/session in Windows Explorer, andare su C:\Oosight Data.

F. DISPLAY INFORMAZIONI E SETTAGGI

Le note sull'immagine, i settaggi e le informazioni sono estratte in formato tabella.

In **Image Notes**, il nome dell'immagine, utilizzatore sessione, numero sequenziale, ora di ripresa sono registrate automaticamente con l'immagine e qui visualizzate. E' possibile associare note ad una immagine particolare disponendo il cursore sul box di testo e scrivere il messaggio.
Il messaggio sara' salvato automaticamente quando è nselezionata una nuova immagine.

Selezionare **Display Settings** per visualizzare i pixels saturati, i livelli di grigio e nella versione Ultra la rappresentazione vettoriale ed in pseudo colore.

Image Info fornisce dettagli sia sui settaggi della camera che sul background associato all'immagine.

.

G. BARRA DEI TASK

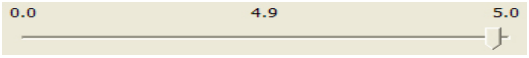
La barra dei task identifica lo stato di comunicazione della camera e del compensatore LC, l'esposizione live, l'ultima esposizione acquisita e l'operazione corrente.

H. STUDIO

La finestra "studio" mostra l'immagine attiva e il live a piena risoluzione. Per passare l'immagine live allo studio occorre fare doppio click sulla finestra Live Video La finestra studio visualizza immagini a 1x1, 2x2, e 3x3.

Usare le icone rappresentative sotto il pannello studio per identificare il set up 1x1, 2x2 e 3x3, (vedi sotto).

La barra sotto il pannello studio serve ad aggiustare il ritardo mostrato per immagini Oosight e Live Oosight, oppure il brightness per l'immagine video. La scala per il ritardo delle immagini puo' essere cambiata dalla finestra Edit/Preferences.



Appunto: Se il vostro campione ha un ritardo inferiore al range selezionato visualizzato sulla barra (default è 5nm), incrementare il ritardo massimo nella finestra Edit/Preferences.
Se il vostro campione ha un ritardo basso , scorrere la barra verso sinistra finche' viene raggiunto un contrasto piu' adatto.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

I. BARRA STRUMENTI

Selezione Freccia: seleziona la normale funzione del mouse (punta e clicca).

Zoom In: zoom in su un immagine selezionata, sia in live che su immagini acquisite. Cliccare sul-immagine per ingrandirla. Il fattore di zoom sara' indicato nella finestra immagine.

Zoom Out: zoom out su un immagine selezionata, sia in live che su immagini acquisite. Cliccare sul-l'immagine per rimpiccolirla. Il fattore di zoom sara' indicato nella finestra immagine.

Pan: muove le immagini dopo che lo zoom è stato applicato alle immagini live o acquisite.

Annotazioni: creare un messaggio di testo sull'immagine. Cliccare sul punto dell'immagine dove dovrebbe apparire la nota. Inserire il testo nella finestra di pop-up e premere OK. Le annotazioni sono salvate automaticamente .

J. GALLERIA

La galleria contiene tutte le immagini acquisite nella sessione. L'immagine selezionata verra' evidenziata con un riquadro verde. Le informazioni dell'immagine selezionata appariranno nel Display Info.
Scorrere le immagini della galleria usando le frecce ai due estremi. Per aprire un immagine fare doppio click sulla stessa nella galleria.

Ultra Software Plug-In Tools

Time-lapse imaging, calibrazioni e misure, misure di angoli, visualizzazioni in pseudo colore, mappature vettoriale e misure di area sono disponibili nel pacchetto Ultra. Per eventuale up grade contattare il vostro rappresentante CRi.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Sezione 3: Setup e Installazione

La sezione seguente illustra come settare l'hardware ed il software di Oosight. Le maggiori informazioni includono il settaggio dell'hardware sul vostro microscopio, l'installazione del software Oosight software, e la prima partenza del software, incluso l'ottimizzazione del microscopio e delle ottiche.

Nota: I seguenti passaggi presumono una buona conoscenza del vostro microscopio e del sistema operativo Microsoft Windows™. Potrebbe risultare utile consultare il manuale utente del vostro microscopio e tutta la documentazione disponibile su Windows.

Settaggio dell' Hardware

Sballaggio dell' Hardware

Appena ricevuto l'hardware Oosight, sballarlo e confrontare il contenuto con la lista componenti inclusa nei documenti di spedizione .

Accertarsi che tutti i componenti siano stati ricevuti e che non sussistano danni dovuti alla spedizione.

.

Mantenere le superfici ottiche esposte pulite e libere da polvere.

Appunto: Per pulire le ottiche si raccomanda l'uso di alcol isopropilico al 70% isopropyl o una soluzione indicata da una ditta di microscopia. Non usare tessuti che possano graffiare le superfici ottiche. Usare invece crta da lenti. Dopo pulito è raccomandato l'uso di aria compressa per rimuovere ogni residuo di fibra lasciato sulle lenti dalla carta ottica.

Computer Setup

Se state installando il sistema su un computer esistente , accertarsi che sia il PC che il monitor rispettino le specifiche minime richieste dal sistema . (riferimento a pag 13, Computer Specification).

Se è stato acquistato il computer col sistema, seguire le istruzioni per l'inizializzazione del computer come indicato nel manuale del computer. Il software Oosight sara' gia preinstallato.

Prima di accendere il computer, accertarsi che sia selezionata l'alimentazione corretta per il vostro paese.

.

Installazione delle ottiche CRi

Installazione del compensatore CRi Liquid Crystal (LC)

Rimuovere il coperchio di protezione del compensatore LC e controllare se esiste sporco, graffi o impronte digitali. Per eventuale pulizia attenersi all'appunto indicato in calce. Ogni compensatore LC è indicato per una specifica configurazione di microscopio. Si prega di consultare la sezione relativa al vostro microscopio come sotto indicato:

.

Nikon Diaphot 200/300, TE200/300: Pag 19

Nikon TE2000: Pag 19

Olympus IX: Pag 20

Zeiss Axiovert 200: Pag 20

Leica DM-IRB: Pag 21

Nikon Diaphot 200 o 300, o TE200 o 300

Questa sezione illustra l'installazione del compensatore LC sui microscopi Nikon Diaphot 200 e 300, e TE200 e 300.

Rimuovere il tavolino del microscopio svitando le tre viti a brugola esagonali. Allentare la brugola di fissaggio del portaobiettivi sul lato destro e successivamesfilare il portaobiettivi stesso con movimento a slitta. .

.

Rimuovere le quattro viti a brugola di fissaggio della copertura in plastica sotto il portaobiettivi e rimuoverla. Rimettere le quattro viti nei propri alloggiamenti e riavvitarle. Estrarre anche la slitta in plastica posizionata sotto la copertura appena rimossa. Per i sistemi dotati di epi-fluorescenza rimuovere anche questa.

Inserire il compensatore CRi LC nel binario a coda di rondine ed allinearlo cosiche' le sue estremita' siano ad eguale distanza dagli estremi del binario. Fermare il tutto con le quattro viti disposte agli angoli del supporto di montaggio.

Quando installato correttamente, il cavo del compensatore LC è disposto sul lato sinistro del microscopio (Figura 3.1).

Riposizionare il portaobiettivi e stringere la vite di fermo. Riposizionare il tavolino e rifissare le viti.

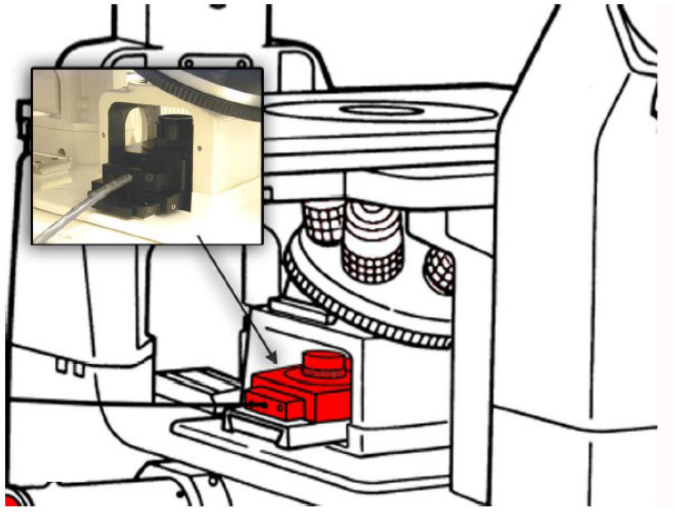


Figura 3.1. Installazione del compensatore LC nel microscopio Nikon TE300 . Il compensatore LC è evidenziato in rosso.

.

Nikon TE2000

Questa sezione illustra come installare il compensatore LC sul microscopio Nikon TE2000.

Rimuovere la slitta di protezione in plastica sotto il portaobiettivi nella parte superiore della base del microscopio. (Figura 3.2).

Inserire il compensatore CRi LC nello slot apposito dal lato destro del microscopio.

Notare che la slitta va' inserita con il logo CRI sulla superficie superiore. La slitta verra' bloccata in posizione corretta.

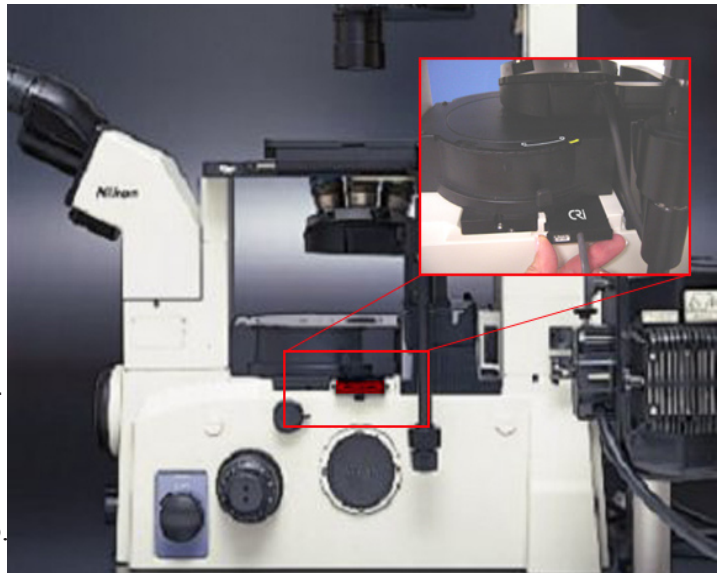


Figura 3.2. Installazione del compensatore LC nel microscopio Nikon TE2000. La slitta rossa nel riquadro indica la posizione corretta del compensatore.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Olympus IX-Series

This section explains how to install the CRi LC Compensator on the Olympus IX microscope.

Unscrew and remove the plastic dust slider located in the nosepiece of the microscope. Slide the CRi LC Compensator into the slot, the optic will lock into position when inserted properly. Tighten the holding screw to fasten it into place (Figure 3.3).

Please note that the optics should be inserted with the CRi logo on the top surface, or face up.

Figure 3.3. Installing the LC Compensator Optic onto an Olympus IX microscope. Red box on microscope denotes position for compensator.

Zeiss Axiovert 200

This section explains how to install the CRi LC Compensator onto the Zeiss Axiovert 200 microscope.

Refer to Figure 3.4 for a visual reference. Remove the plastic dust slider located below the nosepiece of the microscope, along the upper side of the microscope base. Slide the CRi LC Compensator Optic module into the analyzer slot.

Please note that the optics should be inserted with CRi logo face up. The optic will lock into position when inserted properly.

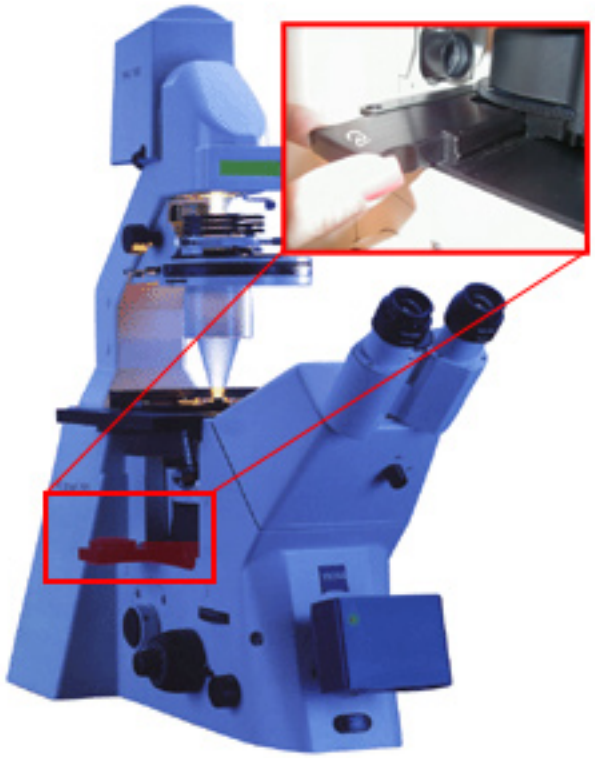


Figure 3.4. Installing the LC Compensator Optic onto a Zeiss Axiovert 200 microscope. Red box on microscope denotes position for compensator.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Leica DM-IRB

This section explains how to install the CRi LC Compensator and housing onto the Leica DM-IRB microscope.

Remove the filter wheel or cover plate on the left-hand side of the base of the Leica microscope as shown in Figure 3.5a.

Insert the CRi housing into this slot as shown in Figure 3.5b. Make sure to slide the housing along the dovetail rails. Insert the CRi LC optic into the open slot (Figure 3.5c). NOTE: The CRi logo should be face-up.

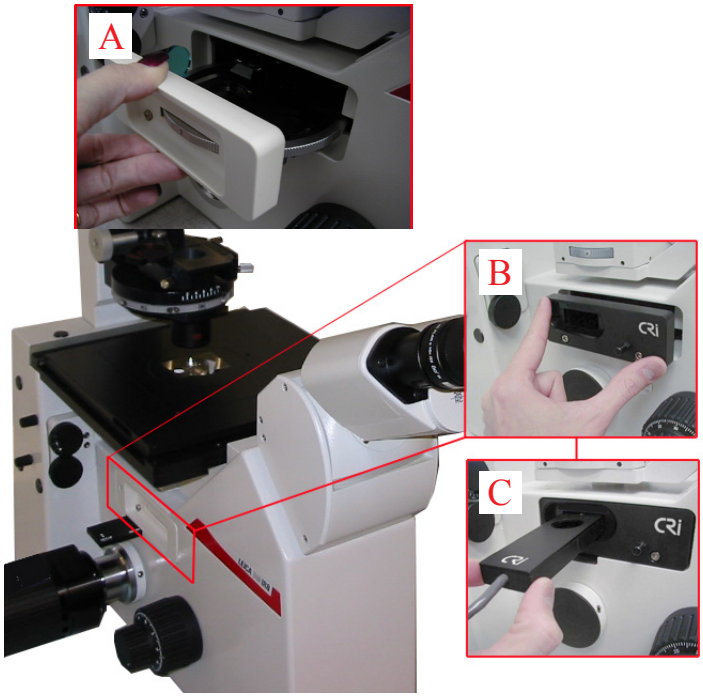


Figure 3.5. Installing the LC Compensator Optic onto a Leica DM-IRB microscope. Red box on microscope denotes position for compensator. A. Removal of filter housing from the microscope. B. Replaced by CRi housing, and C. Insert LC Compensator Optic with CRi logo face-up.

Installing the CRi Circular Polarizer/Interference Filter

Remove the protective tape from the CRi Circular Polarizer/Interference Filter (CP/IF) optic and check for dust, debris, or finger prints. For cleaning instructions, reference the Tip on Page 18. Each CRi CP/IF is built to fit your specific microscope condenser configuration. Please proceed to the section identified by your microscope condenser model as listed below:

HMC Hoffman Modulation Contrast Condensers

EP-Series: Page 22

G-Series: Page 22

Hoffman Modulation Contrast Condensers

Nikon LWD and ELWD: Page 23

Nikon TE2000: Page 23

Olympus IX-71 (Relief Contrast): Page 23

Leica DM-IRB: Page 23

Standard (Non-Hoffman) Condensers

Nikon Diaphot- or TE- 200 or 300: Page 23

Olympus IX-Series: Page 24

Zeiss Axiovert 200: Page 24

Leica DM-IRB: Page 24

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Condensatori HMC

I condensatori Hoffman Modulation Contrast prodotti dalla Modulation Optics, Inc sono specificatamente marcati con la sigla HMC . Non confondere con altri contrasti di hoffman o contrasti di rilievo.
Esistono due distinti modelli di condensatori HMC, rispettivamente la serie EP e la serie G.
Si prega far riferimento alle istruzioni relative al vostro modello particolare.

Serie HMC EP

Questa sezione illustra come installare il polarizzatore CRi nel condensatore HMC serie EP.

Inserire la slitta del polarizzatore CRi sulla lente del condensatore HMC allargando l'anello di fissaggio sul corpo della lente del condensatore.
Stringere la vite a brugola usando l'apposita chiave fornita col sistema per assicurare il supporto in posizione come mostrato nel disegno sotto (Figura 3.6).
Posizionare l'asse del polarizzatore in modo che sia rivolto verso il retro del microscopio ed il logo Oosight sia visibile sul fronte.

Muovere in avanti il pomellino del polarizzatore e fissarlo per bloccare l'ottica in posizione.

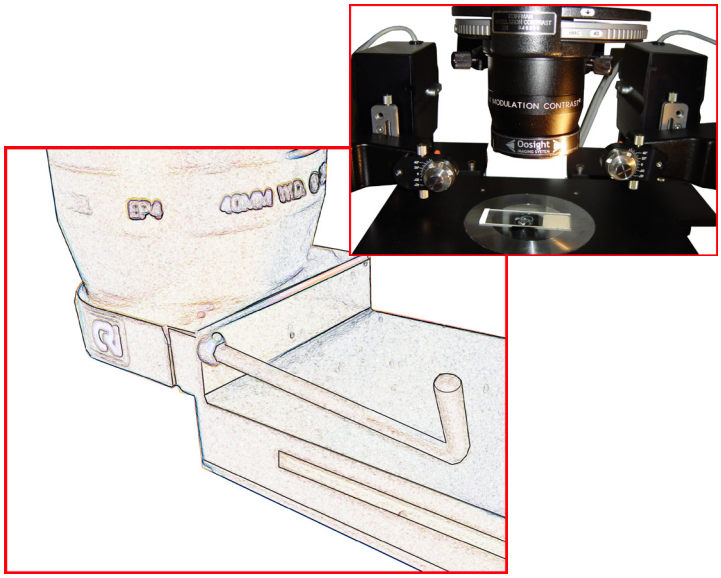


Figura 3.6. Installazione del polarizzatore CRi CP/IF sul condensatore HMC EP4 . Il disegno mostra la posizione della brugola. Usare l'apposita chiave per fissare la slitta sul condensatore .
La foto mostra il polarizzatore CP/IF assemblato sul condensatore HMC.

Serie HMC G

Il condensatore serie HMC G è piu' grande della serie EP e viene marcato con la sigla "G-". Come per il modello EP, l'anello del polarizzatore viene infilato intorno al corpo della lente del condensatore serie G . (Figura 3.7).

Inserire il polarizzatore sulla lente del condensatore HMC aprendo l'anello sotto la lente e richiudendolo sulla lente stessa.
Assicurarsi che l'ottica CRi copra interamente la base del condensatore.
Stringere la vite a brugola nel retro del polarizzatore per posizionarlo correttamente come mostrato in Figura 3.6. Posizionare l'asse del polarizzatore in modo che sia rivolto verso il retro del microscopio ed il logo

rivolto verso il davanti.

Muovere in avanti il pomellino del polarizzatore e fissarlo per bloccare l'ottica in posizione.

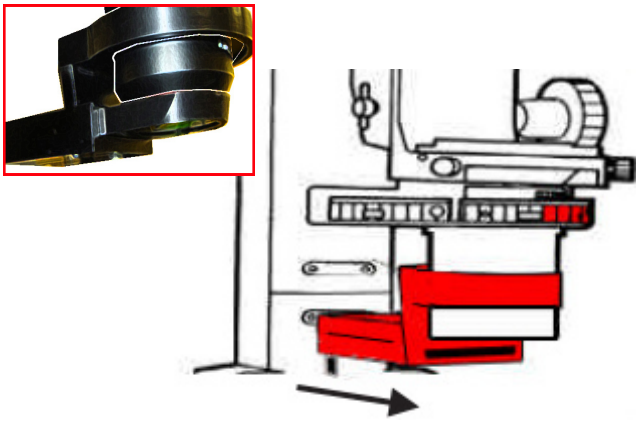


Figura 3.7. Installazione del polarizzatore sul condensatore serie HMC G-. La figura indica il polarizzatore in rosso . La freccia indica la direzione verso cui muovere il pomello per posizionare l'ottica CRi .
La foto fornisce un'altra visualizzazione di come l'ottica CRi viene inserita sul corpo del condensatore.
.

Condensatore Hoffman Modulation Contrast

I condensatori di Hoffman , a parte il classico HMC, comprendono il Nikon LWD e ELWD per Diaphot 200 e 300 oppure per TE300 o 200 oppure per

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Nikon TE2000, Olympus IX-71 contrasto di rilievo, Leica S-40 modulation contrast. Riferirsi al vostro particolare set-up per le istruzioni d'installazione.

Condensatori Nikon LWD e ELWD

I condensatori Nikon LWD e ELWD per il contrasto di hoffman sul Diaphot 200 o 300, o TE200 o 300 utilizzano lo stesso polarizzatore a slitta usato sulla serie EP, ad eccezione dell'anello addizionale per il fissaggio sul corpo della lente condensatrice. Riferirsi alle istruzioni d'installazione a Pagina 22 “Serie HMC EP-”.

Nikon TE2000 Hoffman Modulation Condenser

Il polarizzatore CRi è inserito sopra il condensatore a torretta del Nikon TE2000 (riferimento Fig. 3.8) Il polarizzatore è filettato in modo da avvitarsi alla filettatura del microscopio. Avvitare il polarizzatore sul condensatore ed inserire nel percorso la slitta usando l'apposito pomello.

Figura 3.8. Installazione del polarizzatore CRi sul consensatore del Nikon TE2000. Il quadrato rosso evidenzia la zona di inserzione del polarizzatore.

.

Olympus IX-71 Relief Contrast Condenser

Olympus has released a new version of hoffman modulation contrast, named Relief Contrast. The CRi CP/IF fits into an open 50 mm position *within* the condenser turret. Above the condenser turret, there are two fasteners holding a metal cap to the turret wheel. Unscrew the two fasteners and pull off the metal cap. Move the turret to an open 50 mm position, and snap the CRi CP/IF into place. It may be necessary to recess the metal set springs in order to lock the optic into place. If an open position cannot be easily reached, it might be necessary to remove the entire condenser assembly from the scope. Before inserting the CRi optic, be certain that the CRi logo is face-up.

Leica S40 Condenser

The CRi CP/IF slider assembly for the Leica S40 condenser is identical to that for the HMC G-Series condensers. Refer to installation instructions outlined on Page 22 under “HMC G-Series”.

Condensatori Standard (Non-Hoffman)

I polarizzatori CRi sono fatti per inserirsi in tutti i tipi di condensatori non hoffman modulation contrast indicati sotto come condensatori “Non-Modulation Contrast” . Le istruzioni relative all'inserimento del polarizzatore CRi sono divise per tipo di microscopio.

Condensatori Nikon Diaphot- o TE- 200 o 300

Riferirsi alla Figura 3.9 per visualizzare, quindi rimuovere l'ottica o il portalente situato nella relativa slot del microscopio Nikon TE300, localizzata sulla colonna dell'illuminatore adiacente al portafiltri.

Sostituire l'ottica col polarizzatore CRi CP/IF assicurandosi che il logo CRi sia leggibile dall'alto in basso come mostrato in Figura 3.9.

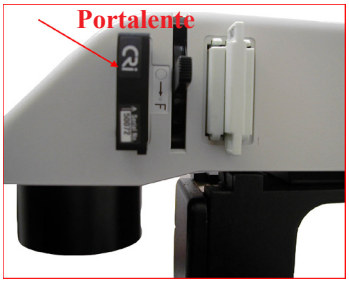


Figura 3.9. Installazione del polarizzatore CRi nel Nikon TE300. Nota che il logo CRi deve apparire con lo stesso orientamento mostrato in foto.

.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Olympus IX-Series Non-Hoffman Condensers

Refer to Figure 3.10 for a visual reference. Flip open one of the swing arm filter holders from the illumination pillar. Snap the CRi CP/IF optic into position. Be sure that the CRi logo reads from top-to-bottom, and that the mirror-side of the optic is facing towards the illumination source.

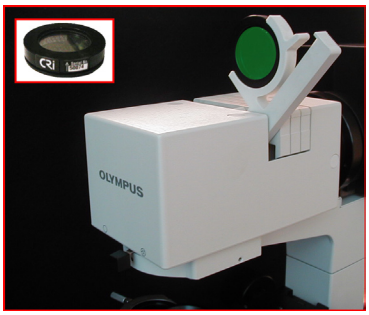


Figure 3.10. Installing the CRi CP/IF optic onto an Olympus IX microscope. The top, shiny surface of the CRi optic should face towards the illumination source, such that the CRi logo reads from top-to-bottom when the optic is in place.

Zeiss Axiovert 200 Non-Hoffman Condensers

Remove the circular polarizer and filter from the CRi housing by unscrewing the optic. Be sure to maintain the orientation of the optics, such that the circular polarizer is inserted top side-up, as an inverted circular polarizer will prevent the system from working properly. Snap the circular polarizer into the middle plastic filter holder (as shown in Figure 3.11). Proceed to then snap the interference filter into the top filter holder. The arrow on the filter housing should face downward, in the direction of the sample stage. It is recommended to use gloves or surround the optic with lens paper as you insert it into the filter holders to avoid getting fingerprints on the face of the optics. To clean the optic, reference the helpful hint on Page 18.

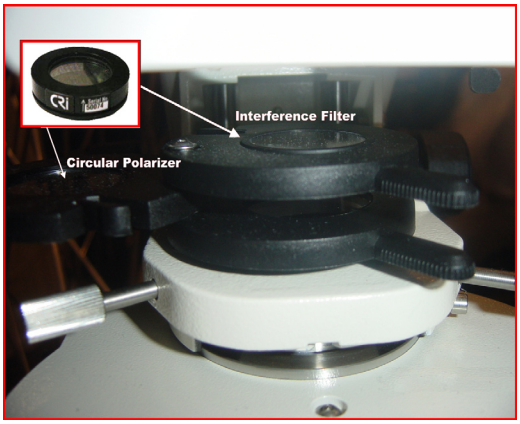


Figure 3.11. Installing the CRi CP/IF optic onto a Zeiss Axiovert 200 microscope. The circular polarizer should be placed into the middle filter holder, and the interference filter into the top filter holder as shown. Be careful to insert optics face-up. An inverted optic will prevent the system from working properly.

Warning: The CP/IF for Olympus systems may look identical to that for Zeiss systems, but the circular polarizer is not the same. They are not interchangeable.

Leica DM-IRB Non-Hoffman Condensers

Place the CRi CP/IF filter ring in the microscope swing-arm, which is located above the turret condenser as shown in Figure 3.12. Be sure that the CRi logo is face-up.

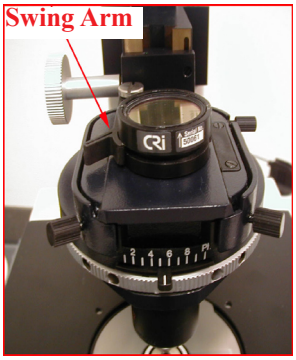


Figure 3.12. Installing the CRi CP/IF optic onto a Leica DM-IRB microscope.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Installazione della CCD Camera

La CRi CCD Camera è connessa alla porta C del vostro microscopio come mostrato in Figura 3.13. Inserire un adattatore passo C 1x alla camera. Se non si è in possesso di un passo C 1x, contattare il vostro rappresentante locale di microscopi. Procedere a connettere la camera ed il passo C all'uscita del microscopio. Fissare la vite sulla porta del microscopio per fissare in posizione la camera. Assicurarsi che il logo Oosight appaia sulla faccia superiore della camera.

Figura 3.13. Camera Oosight installata sulla porta C di un microscopio. L'assemblaggio mostra la camera CCD, l'adattatore passo C 1x ed il microscopio. Stringere la vite di fissaggio per assicurare la camera in posizione.

Settaggio delle connessioni

Ci sono tre cavi parti del sistema, incluso il cavo connesso al compensatore LC, il cavo USB2 e quello connesso al trasformatore.

Cavi di connesione alla camera.

Connettere tutti e tre i cavi al retro della camera come illustrato in Figura 3.14.

Figura 3.14. Inserire il cavo CRi nel retro della camera . Il cavo del compensatore LC si connette al Compensator optic connettore indicato 'LC Optic' mostrato in figura, il cavo USB al connettore indicato 'USB-2', e l'alimentazione all'uscita 'Power'.

Cavo USB-2

Connettere il cavo USB-2 dalla camera ad una porta USB libera sul computer.

Attenzione: Il sistema lavora solo con porte USB-". Qualsiasi computer fabbricato prima di maggio 2001 non possiede questo protocollo USB. Controllare le specifiche del vostro PC per assicurarsi che sia dotato di porta USB-2.

Alimentatore

L'alimentatore va' settato con le specifiche elet- del paese di destinazione. Identificare le proprie specifiche elettriche e settare lo switch nel retro del trasformatore. Se non è possibile settare il proprio voltaggio locale , munirsi di un adattatore intermedio. Connettere l'alimentatore alla rete elettrica a muro. Attaccare l'altro estremo del cavo al retro della camera nell'apposita porta.

Cavo del compensatore LC

Attaccare il connettore multi-pin del cavo LC sul retro della camera. Se il cavo è troppo corto si prega di contattare CRi per richiedere un cavo di prolunga.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Settaggio del microscopio

Illuminazione Koehler

Al fine di ottenere l'intensita' d'illuminazione massima e la migliore qualita' d'immagine, è necessario fare una corretta centrature del condensatore in maniera ottimale cosiche' l'illuminazione sia uniformemente filtrata dal condensatore stesso. Questo processo di ottimizzazione dell'illuminazione è conosciuto come Illuminazione Koehler.

I vantaggi dell'illuminazione Koehler sono i seguenti :

- Illuminazione uniforme
- Immagini chiare, alto contrasto
- Minimo tempo di esposizione

La tecnologia del PolScope, incluso il nuovo Oosight, richiede piu' luce possibile per permettere un accurato e veloce processamento dell'immagine. Seguire le istruzioni qui sotto per settare il proprio microscopio per una corretta illuminazione Koehler.

STEP 1: Selezionare un obiettivo a basso ingrandimento 4x o 10x. Centrare e fuochettare il campione nel campo visivo. Si raccomanda di usare il vetrino di riferimento fornito col sistema per un piu' accurato setup.

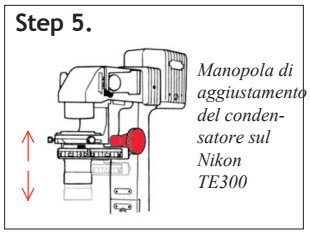
STEP 2: Agire sul potenziometro per aggiustare l'illuminazione ad un livello confortevole.

STEP 3: Inserire l'obiettivo che sara' usato per osservare il campione. Si raccomanda di usare l'obiettivo 20x o 40x. Riaggiustare intensita' e fuoco.

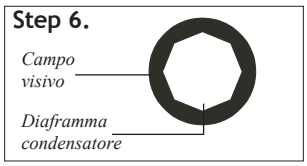
Nota: Per un risultato ottimale, puo' essere utile ripetere gli steps da 4 a 7 usando la visione a video live del sistema Oosight una volta aperto il software.

STEP 4: Chiudere il diaframma del condensatore (sulla colonna illuminatore) cosiche' i lati del diaframma formino un poligono regolare incluso nel vostro campo di visione.

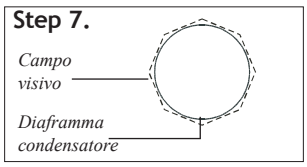
STEP 5: Aggiustare l'altezza del condensatore usando la grossa manopola nera sul supporto condensatore, fino a che i contorni del diaframma sono a fuoco.



STEP 6: Centrare il diaframma nel campo visivo usando i due pomelli metallici sul supporto del condensatore.



STEP 7: Aprire il diaframma del condensatore finche' i contorni spariscono dal campo visivo.



Rimozioni di ottiche d'interferenza

Il sistema Oosight non lavora quando sono inseriti nel percorso ottico altri polarizzatori, filtri o prismi.
Si prega rimuovere tutte le ottiche che possono interferire.
Si consiglia di controllare la colonna illuminazione, il condensatore, obiettivi e portafiltri prima di procedere.
Se si possiede un sistema ottico DIC, il prisma dovrebbe trovarsi alla base dell'obiettivo. Rimuoverlo prima di procedere. Per il setup Hoffman rimuovere il polarizzatore

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

posizionato fra la colonna illuminazione ed il condensatore. Posizionare il vostro condensatore in posizione BF, o posizione campo chiaro, dato che il polarizzatore CRi occupera' un foro della torretta. Rimuovere la superfice in plastica dal fondo in vetro delle capsule Petri.

Ottica CRi

Inserire il polarizzatore CRi ed il compensatore LC in posizione . Noterete che l'inserimento delle ottiche CRi nel percorso ottico ridurra' significativamente l'intensita' luminosa allo stesso modo di quando è inserito un qualsiasi polarizzatore nel percorso. Aumentare l'illuminazione fino ad un livello confortevole.
Aumentare quindi l'intensita' della lampada del vostro microscopio ad un livello confortevole.

Installazione del software Oosight

Inserire il CD di installazione fornito insieme al sistema. Seguire il ciclo di installazione che apparira' nelle finestre a video.

Avvenuta l'installazione, selezionare CONTROL PANEL dal menu' START del tuo desktop.
Selezionare DISPLAY e poi SETTINGS. Impostare la risoluzione video a 1280x1024, ed il colore a 24 o 32 bit.

Sezione 4: Operazioni sul Sistema Oosight.

La seguente sezioni è riassunta in uno sheet separato e fornito direttamente col sistema Oosight™ .
Questa guida all'uso veloce potra' essere usata come un conveniente manuale di riferimento. Esso fornisce istruzioni concise su come acquisire ed analizzare velocemente le immagini. Comunque non va' inteso come sostituto di questo stesso manuale piu' dettagliato e completo.
Per il setup iniziale è raccomandato caldamente di seguire le istruzioni sottoindicate.

Nota: Riferirsi alla Sezione 2 "Guida di Riferimento del software" di questo manuale per capire le caratteristiche ed i comandi.

Setup e Acquisizione

1. Aprire il software Oosight dall'icona sul desktop.

2. Appena avviato il sistema propone di definire un User name e la Session. Per User è raccomandabile di inserire il proprio nome, definire il nome della Sessione come nome, paziente, caso, o campione.

3. Posizionare una capsula di controllo (o il vetrino di riferimanto) sul microscopio. Vedere la Sezione 3 come istruzioni per il settaggio ottimale del vostro microscopio.

4. Inserire le ottiche CRi nel percorso ottico e rimuovere ogni altra ottica che interferisca.

5. Settare l'intensita' della lampada ad un livello alto ma ancora confortevole.

6. Selezionare l'uscita giusta per la camera.

7. Posizionare il campione in modo che non appaia

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

nessun oggetto nella finestra LIVE VIDEO.

8. Per allargare la finestra LIVE VIDEO a piena risoluzione fare doppio click sull'immagine. L'immagine a risoluzione piena apparira' nella finestra Studio. Assicurarsi che lo STUDIO stia mostrando il formato 1x1 (come selezionato dal riquadro singolo sotto la finestra STUDIO.)

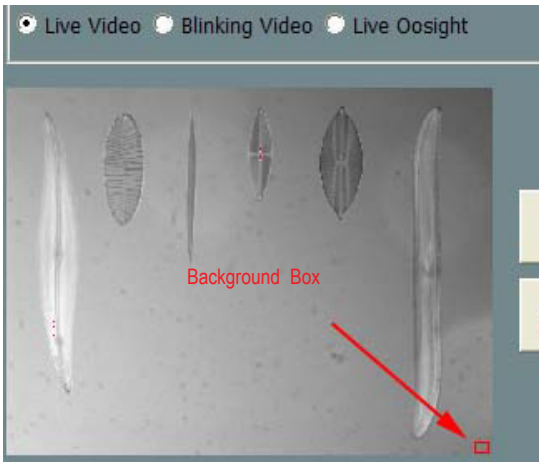
9. Selezionare SETTINGS/SETUP... dalla barra del menu'.

10. Selezionare l'azimut dell'angolo di offset dalla lista drop-down. Per microscopi Olympus impostare 135. Per tutti gli altri selezionare 90. Una volta inserito non occorre ripetere questo step.

11. Selezionare SETTINGS/SETUP OPTICAL STATES dalla barra menu'. Premere OK per continuare. Il compensatore LC iniziera' il ciclo per trovare il settaggio ottimale, e quindi acquisira' un'immagine del background. Riferirsi a pag. 15 per indicazione su quando ripetere questo step.

12. Entrare nel nome immagine. Un numero sequenziale verra' assegnato all'immagine. Si raccomanda di nominare l'immagine col nome o numero del paziente o del campione.

13. Posizionare la capsula campione sul tavolino e mettere a fuoco a video nella finestra LIVE VIDEO. Assicurarsi che il campione non sia posizionato nel riquadro rosso in basso a sinistra della finestra LIVE VIDEO.



14. Selezionare LIVE OOSIGHT dal menu' LIVE VIDEO .

15. Mettere a fuoco sull'ovocita finche' il fuso sara' visibile. Per agevolare la messa a fuoco usare l'opzione zoom sulla barra dei tool e clickare sul fuso nell'immagine live. Quindi aggiustare il fuoco definitivamente.

16. Selezionare SNAP OOSIGHT per acquisire un immagine. L'immagine acquisita apparira' nella finestra Studio ed in GALLERY. L'immagine viene salvata autoamticamente. A

Analisi delle immagini

Il sistema Oosight include le funzioni zoom, panning, annotazioni e note .Le funzioni zoom, panning e annotazioni hanno accesso tramite barra strumenti. Vedere pag.17 per una descrizione piu' dettagliata. Per aggiungere delle note ad un immagine, selezionare IMAGE NOTES dal menu' DISPLAY INFO AND SETTINGS. Le note inserite saranno salvate automaticamente con l'immagine.

La versione Ultra del software espande le performance del pacchetto standard includendo vari tools per analizzare e misurare distanze, dati sul ritardo e l'orientamento.
Questi dati possono essere visualizzati attraverso pseudo colori, vettori, aree d'interesse e punti d'interesse.
La versione Ultra include anche un'opzione video time-lapse per cattura di sequenze in formato digitale.
Per l'up grade alla versione Ultra si prega contattare il vostro rappresentante CRi.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Section 5: Domande & quesiti ricorrenti

La sezione seguente contiene una lista delle domande piu' frequentemente richieste coi relativi dettagli per richiedere un adeguato supporto tecnico dal service CRi.

Domande piu' frequenti (FAQs)

Abbiamo compilato una lista di domande e risposte che possono indirizzarvi alla soluzione di alcuni quesiti comuni che possono sorgere operando col sistema Oosight.

Q: Posso vedere il fuso mentre effettuo la micromanipolazione?
A: Sì, posso vedere il fuso attraverso gli oculari del microscopio e nella finestra live Oosight Video sul monitor del PC.

Q: Quali benefici posso ottenere attraverso la visione del fuso ?
A: Ce ne sono molti. I maggiori sono i seguenti:

- La presenza di un fuso intatto puo' essere usata come indice di salute dell'ovocita.
- Una migrazione significativa del fuso dal globulo polare (es., >90°) è indice di una compromessa condizione dell'ovocita.
- La morfologia del fuso è stata correlata con alcune anomalie cromosomiche come le aneuploidie.
- La ICSI con il fuso disposto ad ore 6 fornisce un minor numero di embrioni fragmentati.
- Il fuso è un buon indicatore dei fattori estrinseci ottimali come la temperatura ed il pH.

Q: Posso usare il sistema Oosight su qualsiasi microscopio?
A: Il sistema puo' essere inserito su la maggior parte dedi microscopi da ricerca inclusi Nikon Diaphot 200/300, TE200/300, TE2000, Leica DMIRB, Zeiss Axiovert 200, e Olympus IX-serie. Comunque non è possibile trasferire il vostro sistema da un modello di microscopio ad uno diverso.

Q: Occorrono obiettivi o condensatori particolari ?
A: Non per visualizzare il fuso. Si puo' usare sia Hoffman, DIC o campo chiaro. Per analisi morfologica del fuso occorrono obiettivi strain-free con elevata apertura numerica.

Q: Posso usare una camera diversa ?
A: No. La camera è totalmente integrata con l'elettronica ed il software del sistema.

Q: Posso usare la camera dell'Oosight con altri tipi di sistemi ?
A: Sì, si puo' usare questa camera col software Chronus™ ed il sistema laser Saturn™ della Research Instruments, oppure col sistema laser Zilo della Hamilton Thorne.

Q: Posso usare un diverso computer?
A: Sì, ma si consiglia di assicurarsi che questo rispetti i requisiti minimi richiesti.

Q: Posso usare capsule Petri in plastica ?
A: No. La plastica è birifrangente e quindi interferisce col sistema .

Q: Perche' non posso vedere il fuso in tutti gli ovociti che analizzo ?
A: La maggioranza delle volte la ragione della mancata visione è nella non completa maturazione dell'ovocita, nella necessita di ruotare l'ovocita o nel mancato controllo del tavolino nel mantenere la temperatura ottimale.
I tavolino termostatati in vetro tendono a mantenere la migliore stabilita' termica. Un foro troppo grande nel tavolino termostatato metallico (es. >25mm.) puo' causare un effetto di perdita termica ed indurre una depolimerizzazione del fuso stesso.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Guida alla soluzione dei problemi

Questa sessione contiene una lista di problemi che identifica la maggior parte dei malfunzionamenti o messaggi d'errore,con le relative descrizioni e le possibili azioni correttive.

Problema/Error Message	Descrizione/Azione correttiva
Hardware: LED A sul retro della camera CCD è rosso o non illuminato anche se il computer risulta acceso.	Controllare le connessioni tra camera e computer ed assicurarsi che l'alimentatore sia acceso ed il LED illuminato di verde. Se non lo è potrebbero esistere problemi nelle connessioni elettriche alla rete. .
Hardware: LED B sul retro della camera CCD è rosso o non illuminato anche se il computer risulta acceso.	Controllare le connessioni tra compensatore LC e la camera, e la connessione USB tra camera e computer .
Hardware: La connessione USB2 è persa	Disconnettere il cavo USB e riconnetterlo ad una diversa porta USB. Se non si risolve il problema, provare a reinstallare i drivers USB contenuti nel CD-ROM di installazione.
Software: Una volta aperto il software non appare l'immagine live.	Provare a chiudere e riavviare il software. Se non si risolve il problema ricontrollare tutti i cavi di connessione alla camera e riprovare.
Software: Il sistema non completa il setup dello stato dell'ottica.	Controllare il setup del microscopio e possibili elementi ottici d'interferenza interposti, come polarizzatori, filtri, prismi o plastica nei contenitori. Assicurarsi che le ottiche CRi siano inserite nel percorso e col corretto orientamento.
Software: Nella modalita' Oosight Video, l'immagine appare bianca.	Assicurarsi che il campione non sia nel riquadro rosso in basso alla finestra live della schermata LIVE VIDEO.
Software: Il background dell' immagine non è nero.	Riacquisire l'immagine del background, assicurandosi che non appaia il campione nella finestra LIVE.
Software: La qualita' dell'immagine è scarsa .	Riacquisire il background e l'immagine.
Sofware: Appare dello sporco nell'immagine live che non sparisce o si sposta muovendo la mia capsula.	Rimuovere la camera dall'adattatore e pulire la superfice della lente del passo C. Riferirsi alla nota di pag. 18 del manuale per la pulizia accurata delle superfici ottiche.
Software: Il software è bloccato e non è possibile tornare ad una funzione attiva.	Premere Ctrl/Alt/Delete sulla tastiera ed aprire Task Manager/Applications, poi selezionare Oosight e quindi End Task/Ok. Riavviare il software. Se il problema persiste contattare CRi.
Software: Il software ha rilevato un problema e si è chiuso autonomamente.	Inviare il messaggio d'errore a techsupport@cri-inc.com e trovato al momento del problema nella direttori C:\Oosight Data.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Problema/Error Message	Descrizione/Azione correttiva
*Altro: N*on è possibile trovare il fuso.	Assicurarsi che la temperatura del media sia 37°C e che l'ovocita sia stato ruotato nella finestra LIVE in modo di assicurarsi che il fuso non sia spostato dal piano del globulo polare. Se cio' è stato fatto e la qualita' dell'immagine appare buona, allora il vostro ovocita non presenta un fuso birifrangente.

Contatto CRi o il rappresentante locale :

Se non è possibile risolvere un problema si prega contattare il vostro rappresentante locale CRi a queste e-mail:

Territorio	Contatto Email
Africa	techsupport@cri-inc.com
Latin America	techsupport@cri-inc.com
Middle East	techsupport@cri-inc.com
North America	techsupport@cri-inc.com
South America outside of Brail	techsupport@cri-inc.com
Australia	dcthom1@attglobal.net
Brazil	info@spectrun.com.br
Europe	sally@research-instruments
Israel	al_rad@netvision.net.il
India	dilip@trivectorindia.com
Japan	mediconjp@aol.com
S Korea	sygt@netsgo.com
China	joseph@ming-mei.com.tw
Taiwan	joseph@ming-mei.com.tw
Southeast Asia	joseph@ming-mei.com.tw

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Appendice A: Specifiche tecniche

Le specifiche del sistema incluse quelle della camera, quelle ottiche ed elettriche , sono elencate nella lista sottostante.

Ottica	
Lunghezza d'onda di lavoro	546nm
Risoluzione spaziale	Al limite della diffrazione
Oytica di proiezione	0.65x (si richiede un passo C 1x)
Controlli elettrici	
Alimentazione	5V 3A con voltaggio in ingresso standard
Formato immagine	
Formato dell'immagine disponibile	TIFF
Camera CCD	
Standard	
Dimensioni Chip	1/2” Diagonale
Risoluzione immagine	1392x1040, 8-bit
Dimensioni del Pixel	6.47 x 4.83 µm
Versione Ultra (Cooled)	
Dimensioni Chip	2/3” Diagonale
Risoluzione immagine	1392x1040, 12-bit
Dimensioni del Pixel	6.47 x 4.83 µm
Accessori Opzionali	
Computer (desktop o laptop)	PC-compatible, Pentium™-class CPU con Microsoft Windows™ XP Pro
Monitor	20” LCD

Compatibilita' Microscopi

Il sistema è compatibile coi seguenti microscopi rovesciati dotati di uscita per videocamera:

- Leica DM-IRB e DM-IRE
- Nikon DiaphotTM 200/300, TE-300
- Nikon TE-2000
- Olympus IX-Series
- Zeiss AxiovertTM 200

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

Se il vostro microscopio non rientra nella lista si prega contattare CRi per la compatibilita'.

Accessori (non forniti col sistema)

- Capsule con fondo in vetro
  Willco Wells, WPI, Mat-tech

- Tavolini o camere termostatate
  In vetro: Tokai Hit
  In metallo con foro centrale : Research Insruments o rivenditore locale

- Raccomandate per un' ottima qualita' d'immagine : Obiettivi strain-free. Inclusi obiettivi DIC o Plan con alta apertura numerica (NA), e condensatore ad alta NA. Evitare le ottiche per contrasto di fase.

Appendice B: Importanti Note

Sommario istruzioni:

LEGGERE QUESTO MANUALE D'ISTRUZIONE PRIMA DI USARE IL SISTEMA OOSIGHT™ .

- Si prega dedicare particolare attenzione ai seguenti punti : non sottoporre i componenti a luce intensa da fonte laser, lampada arco o lampada HG.

- Notare che alcuni cavi e adattatori forniti col sistema hanno particolari specifiche . Usare cavi non dedicati per connettere i componenti forniti da CRi puo' causare danni al sistema stesso.
  Cio' comporta anche la sospensione della garanzia.

Per assistenza sul sistema Oosight contattare il vostro distributore autorizzato (riferimenti a page 31) oppure il servizio clienti CRi ai numeri :

Telephone (US Toll-Free): 1-800-383-7924

Telephone (Worldwide): +1-781-935-9099

Facsimile (Worldwide): +1-781-935-3388

E-mail: techsupport@cri-inc.com.

Sicurezza e pericoli:

IMPORTANTE: E' importante leggere e capire il presente manuale PRIMA di operare sul sistema Oosight. Leggere il manuale in anticipo rende piu' facile e sicuro l'uso del sistema . Seguendo le procedure consigliate di mantenimento si assicura una performance ottimale anche dopo anni di utilizzo. Come ogni altro strumento scientifico , esistono alcune importanti considerazioni sulla sicurezza. Queste sono elencate ed evidenziate nel testo sottostante.

Design Change Disclaimer:

Due to design changes and product improvements, information in this manual, including software screens, is subject to change without notice. Cambridge Research & Instrumentation, Inc. (herein after called "CRi") reserves the right to change product design at any time without notice to any one, which may subsequently affect the contents of this manual. CRi will make every reasonable effort to ensure that this User's Manual is up-to-date and corresponds with the shipped Oosight Imaging System.

Reproduction Disclaimer:

Neither this manual nor any part of it may be reproduced, photocopied, or electronically transmitted–unless it is for the use of the Oosight system end-user–without the advance written permission of CRi.

User Operation Assistance:

Should you experience any difficulty when setting up, operating, or maintaining your Oosight Imaging System, please contact your CRi representative. Feel free to visit our website at http://www.cri-inc.com or contact our Technical Support department at 781-935-9099.

Contact CRi via e-mail at:
techsupport@cri-inc.com

Office hours are 8:00 a.m. to 6:00 p.m. (Eastern Standard/Daylight Time), Monday through Friday.

Warranty

CRi warrants its Oosight systems for a period of one (1) year from date of shipment against defects in material and/or workmanship, provided its installation, application, and maintenance are within specifications. Normal wearing parts are excluded. This warranty covers only items manufactured by CRi. CRi will correct, by repair or replacement–at its option and its expense–any proved defects in items of its manufacture, subject to above, provided immediate written notice of such defects is given.

A valid Return Materials Authorization (RMA) must be obtained by contacting CRi before items may be returned to the factory. Repair or replacement will be provided F.O.B. (Freight On Board) at CRi's factory. The total financial obligation of CRi, under this warranty, does not exceed the purchase price of the items of its manufacture as set forth on normal pricing schedules. We will not assume any expense or liability for repairs made by others without our prior written consent.

This warranty is void and CRi will be free from all obligations hereunder if the items of its manufacture have been misused, reprocessed or reused, repaired or modified without our written consent. CRi assumes no liability for damages or injuries resulting from the misuse, misapplication, or unauthorized repair or modification of its equipment.

We assume no liability to users of our equipment or to any other person or persons for special or consequential damages of any kind and from any cause arising out of or in any way connected with the use of the equipment. All warranty and post-warranty service is nontransferable from the original shipping address to another without the prior written consent of CRi.

CE and UL Testing and Certification

The Oosight™system has been tested by an independent CE testing facility, and bears the appropriate CE mark.

Servicing should be performed by CRi-authorized and trained personnel only.

CRi Software End-User License Agreement

The following is an agreement (the "Agreement") between you and Cambridge Research & Instrumentation Inc., 35-B Cabot Road, Woburn, MA 01801 ("CRi") for software known as Oosight and its accompanying documentation (collectively, the "Software"). By installing and/or using the Software, you agree to the following terms and conditions. If you do not agree to all of the terms and conditions in this Agreement, you may not install or use the Software.

1. Single Use License. The Software is licensed to you and not sold. Subject to the terms and conditions of this Agreement, CRi hereby grants to you a restricted,

non-exclusive, non-transferable, non-assignable, non-sublicensable and revocable license to use, for your internal purposes only, the executable code version of the Software and the accompanying documentation in hard copy or electronic format. CRi RESERVES ALL RIGHTS NOT EXPRESSLY GRANTED BY THIS AGREEMENT.

2. Specific Restrictions. You may use the Software only on a single computer at a time. You may not use the Software on more than one computer or computer terminal at the same time, nor allow access to the Software from one computer to another over a network, the Internet or by any other means. You may make only one (1) copy of the Software, solely for backup purposes. You may not decompile, reverse engineer, disassemble, alter, modify, translate, adapt, decipher, or determine the source code or create derivative works of, the Software.

3. Ownership of Software. CRi and/or its suppliers own all right, title and interest, including all copyrights, in and to the Software. The Software contains confidential information and trade secrets of CRi. You (i) acknowledge, and agree not to contest, CRI's rights in the Software; (ii) agree not to disclose to anyone, or allow anyone access to, the Software; and (iii) agree not to disclose any confidential information of CRi regarding the Software or that is otherwise disclosed to you in connection with this Agreement.

4. Transfer Restrictions. The Software is licensed only to you. The Software may not be transferred to anyone without the prior written consent of CRi. The terms and conditions of this Agreement shall bind any CRi-authorized transferee of the Software. You may not transfer, assign, rent, lease, lend, sell, grant a security interest in, sublicense or otherwise dispose of the Software, on a temporary or permanent basis, except for a CRi-authorized transfer as stated above.

5. Termination. The license granted in Section 1 above is effective until terminated. This Agreement is conditioned upon your continued compliance with the terms and conditions hereof and will terminate automatically without notice from CRi if you fail to comply with any term or condition of the Agreement. Furthermore, CRi may terminate this Agreement at any time upon thirty (30) days notice. Upon termination of this Agreement, you shall immediately destroy all copies of the Software (including all accompanying documentation) and any other confidential and proprietary information you have received during or in connection with this Agreement.

6. Limited Warranty. CRi warrants that the media on which the Software is provided will be free from defects in materials and faulty workmanship under normal use for a period of ninety (90) days from the date of delivery. Your exclusive remedy under this Section 6 shall be, at CRI's option, a refund of the price paid for the Software or replacement of the media on which the Software was provided so long as that media has been returned to CRi under a CRi-issued return authorization. CRi shall have no responsibility to replace media damaged by accident, abuse or misapplication.

7. No Other Warranties. EXCEPT FOR THE LIMITED WARRANTY STATED IMMEDIATELY ABOVE, THE SOFTWARE IS PROVIDED "AS IS" WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, AND CRi EXPRESSLY DISCLAIMS ANY AND ALL IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING WITHOUT LIMITATION ANY WARRANTY OF MERCHANTABILITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OR NON-INFRINGEMENT OF THIRD PARTY RIGHTS. CRi DOES NOT REPRESENT OR WARRANT THAT THE RESULTS OR THE USE OF THE SOFTWARE WILL BE CORRECT, ACCURATE OR RELIABLE, OR THAT THE SOFTWARE WILL OPERATE UNINTERRUPTED OR ERROR-FREE, OR THAT DEFECTS IN THE SOFTWARE WILL BE CORRECTED. YOU ASSUME ALL RISK ASSOCIATED WITH THE USE, RESULTS AND PERFORMANCE OF THE SOFTWARE.

8. Limitation of Liability. IN NO EVENT SHALL CRi, ITS AFFILIATES OR SUPPLIERS, OR THEIR RESPECTIVE EMPLOYEES, OFFICERS OR AGENTS, BE LIABLE FOR ANY DAMAGES ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE THE SOFTWARE, INCLUDING WITHOUT LIMITATION INCIDENTAL, SPECIAL, CONSEQUENTIAL, PUNITIVE, EXEMPLARY, INDIRECT OR DIRECT DAMAGES (INCLUDING WITHOUT LIMITATION DAMAGES FOR LOSS OF PROFITS, LOSS OF DATA, RE-RUN TIME,

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

INACCURATE INPUT, WORK DELAYS, BUSINESS INTERRUPTION OR ANY OTHER COMMERCIAL DAMAGES OR LOSSES), WHETHER IN AN ACTION IN CONTRACT, TORT (INCLUDING NEGLIGENCE AND STRICT LIABILITY) OR OTHERWISE, AND EVEN IF CRi HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES, AND REGARDLESS OF WHETHER ANY REMEDY FAILS OF ITS ESSENTIAL PURPOSE.

9. U.S. Government End Users. The Software qualifies as commercial computer software for purposes of the Federal Acquisition Regulations (FAR) §52.227-19 and the Department of Defense Supplement to the FAR (DFARS) §52.227.7013. If the Software is acquired by a civilian government agency, it is furnished with only the minimum Restricted Rights provided by FAR 52.227-19. If the Software is acquired by a military agency, it is furnished with only the minimum Restricted Rights provided by DFARS 52.227-7013(c)(1)(ii).

10. Miscellaneous. This Agreement contains the entire agreement of the parties with respect to the subject matter hereof and supersedes any proposal or prior agreement, written or oral, and any other communications between the parties relating to the subject matter hereof. No modification or waiver of any provision of this Agreement shall be effective unless in writing and signed by the parties. No delay or failure on the part of any party in exercising any right under this Agreement shall impair any such right or any remedy of such party, nor shall it be construed to be a waiver of any continuing breach or default under this Agreement. In the event any provision of this Agreement is held to be unenforceable, the remaining provisions of this Agreement will remain in full force and effect. This Agreement shall be governed by the laws of the State of New York without regard to principles of conflicts of laws. Any disputes relating hereto shall be adjudicated only in the state or federal courts in New York County, New York State, and you hereby consent to the exclusive jurisdiction of those courts. This Agreement shall not be governed by the United Nations Convention on Contracts for the International Sale of Goods, the application of which is expressly excluded. You may not assign or otherwise transfer this Agreement or any of your rights or obligations therein without the prior written consent of CRi. You may not use the Software for any unlawful purpose nor export or re-export the Software except as authorized by law.

11. Modules covered by LGPL license. This software is distributed with Boost support DLL libraries covered by the Boost license. They have not been modified by CRi and all rights are reserved by the copyright holder. Also, this software includes the Icon Factory.dll library module, which uses the Ximian icons. These icons were authored by Novell and are bound by the LGPL license. Source code for this module is available upon request to CRi. at the address below.

Should you have any question concerning this Agreement, you may contact CRi by writing to CRi, Inc., 35-B Cabot Road, Woburn, MA 01801. You may also call 1-800-383-7924 in the US or +1-781-935-9099 elsewhere.

CRi, 35-B Cabot Road Woburn, MA 01801 USA :: (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388 :: sales@cri-inc.com :: www.cri-inc.com

For more information, contact CRi or your local, authorized CRi distributor:

Cambridge Research & Instrumentation, Inc. (CRi) 35-B Cabot Road, Woburn, MA, 01801, USA (Toll-Free US) 1-800-383-7924, (P) +1-781-935-9099, (F) +1-781-935-3388, techsupport@cri-inc.com

Oosight and LC-PolScope are trademarks of Cambridge Research & Instrumentation, Inc. Other trademarks and trade names may be used in this document to refer to either the entities claiming the marks and names or their products.